

Articulo/Article Sección B/Section B Vol. 16, nro. 2 e3340

Diagnóstico del complejo mancha de asfalto en el cultivo de maíz en el Altiplano Central de Guatemala

Astrid J. Racancoj Coyoy ** , Glenda E. Pérez García * , Johnny Patal *

- Programa de Protección Vegetal, Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), Guatemala.
- ²Programa de Socioeconomía Rural, Instituto de Ciencia y Tecnología Agricolas (ICTA), Guatemala,
- * Autor correspondiente, email: astrid.racancoj@icta.gob.gt

Prospection of Corn Tar Spot Complex at Central Highlands of Guatemala

Resumen

El complejo mancha de asfalto (CMA) es una enfermedad del maíz asociada a la presencia de tres hongos fitopatógenos; los dos primeros son Phyllachora maydis y Monographella mavdis, y el tercer patógeno es el hiperparásito de los estromas de P. mavdis conocido como Coniothyrium phyllachorae. Esta enfermedad afecta el rendimiento del cultivo, y en ocasiones puede generar una pérdida total. El CMA ha predominado en zonas del trópico, caracterizadas por presentar altas temperaturas y alta humedad relativa. Sin embargo, a partir del 2015, se han generado reportes en Estados Unidos, México y Ecuador respecto a la presencia de P. maydis en zonas productoras de maíz de templadas a frías (≤ 15 °C). En este contexto, con la finalidad de determinar la presencia de los patógenos asociados al CMA en zonas de clima templado de Guatemala, durante el segundo semestre del 2022, se visitaron 48 parcelas de maíz en el departamento de Chimaltenango. En cada parcela se evaluó la incidencia y el grado de infección de los síntomas asociados al CMA. En 13 municipios de Chimaltenango se detectó la presencia de estromas de P. maydis (manchas negras brillantes, dispersas sobre la hoja), así como la formación de "ojo de pescado". La incidencia osciló entre 10 y 100 %, con un grado de infección entre moderado y fuerte, según la escala utilizada. Se confirmó que al menos uno de los patógenos asociados al CMA (P. maydis) está presente en las zonas de producción de maíz del altiplano central de Guatemala.

Palabras dave: Phyllachora maydis, Monographella maydis, grado de infección, temperatura.

Abstract

Tar spot complex (TSC) is a corn disease associated with the presence of three fungi: the first two pathogens being *Phyllachora maydis* and *Monographella maydis*, and the hyperparasite of the stromas of *P. maydis* known as *Coniothyrium phyllachorae*. This disease affects the yield of the crop, which can sometimes lead to total loss. It has predominated in tropical areas, characterized by high temperatures and high relative humidity. However, since 2015, there have been reports in the United States, Mexico, and Ecuador of the presence of *P. maydis* in temperate to cold corn production areas. In this context, to determine the presence of pathogens associated with TSC in temperate climate areas, 48 corn fields in the department of Chimaltenango were evaluated during the second half of 2022. In each field, the incidence and degree of infection were evaluated. In 13 locations of Chimaltenango, the presence of *P. maydis* stromas







Editado por / Edited by: María Gabriela Albán

> Recibido / Received: 31/05/2024

Accepted: 05/09/2024

Publicado en línea / Published online: 10/12/2024





(shiny black spots scattered on the leaf) was detected, as well as the formation of "flsh eyes". The incidence ranged between 10 and 100 %, with a degree of infection between moderate and strong, according to the scale used. It was confirmed that at least one of the pathogens associated with the TSC, *P. maydis*, is present in the corn production areas of the central highlands of Guatemala.

Key words: Phyllachora maydis, Monographella maydis, infection degree, temperature

INTRODUCCIÓN

El maíz (Zea mays L.) es uno de los granos más importantes en diferentes sectores económicos a nivel mundial [1, 2]. "En Guatemala, forma parte de la dieta básica y está profundamente arralgado en la cultura desde épocas ancestrales" [2]. Para muchas familias del área rural, es una fuente de recurso económico que garantiza su seguridad alimentaria y supervivencia [1, 3]. El cultivo se ha establecido en diferentes condiciones agroecológicas, asociadas con la temperatura, la humedad relativa, la precipitación y la altitud (de cero a 3,100 m s. n. m.) [2]. Así, como los genotipos de maíz se han adaptado a la diversidad de ambientes, desde condiciones tropicales, subtropicales y templadas, los patógenos que se asocian al cultivo también se han adaptado a las diferentes condiciones.

El compleio mancha de asfalto (CMA) es una de las enfermedades que afecta al cultivo y se atribuye a un complejo patológico producido por los hongos Phyllachora maydis, Monographella maydis (sin. Microdochium maydis) y Coniothyrium phyllachorae Maubl., asociado como hiperparásito de los estromas de P. maydis, La infección inicia con P. maydis, que genera los primeros síntomas visibles en las hojas de maíz: manchas negras elevadas y brillosas dispersas en la superficie de la hoja. Estas manchas son de forma ovalada a circular de 0.5-2,0 mm de diámetro, denominadas estromas. Al colonizar M. maydis se forma una lesión denominada olo de pescado (4, 5, 6, 7, 8, 9, 10). La enfermedad avanza de las hojas inferiores a las superiores, cubriendo la totalidad de la planta [9]. P. maydis es un ascomicete, su reproducción sexual genera ascosporas y de manera asexual genera conidios. Las ascosporas se forman dentro de las ascas de pared simple, dentro de un solo peritecio cubierto por estromas donde se producen ocho ascosporas ovaladas de 10 a 14 µm × 5.5 a 8 µm por asca [6, 11, 12]. Cuando los sistemas de producción cuentan con las condiciones apropiadas para la diseminación y el desarrollo de la infección de los agentes causales del CMA y estas ocurren antes del período de floración en materiales susceptibles, se puede perder hasta el 100 % de la producción [13, 14]. Según el modelo de predicción desarrollado en Estados Unidos [14, 15], se demuestra que una pérdida del 1 % en la producción de maíz causada por el CMA podría generar una reducción en la producción de 1.5 millones de toneladas métricas del grano, por un valor aproximado de 231.6 millones de dólares. Las pérdidas de producción afectarían tanto a industrias asociadas al maíz en los Estados Unidos, como a la seguridad alimentaria de varios países.

En Guatemala, la presencia del CMA es una de las problemáticas de mayor importancia en la producción en el oriente y norte del país, ya que ha causado hasta el 80 % de las pérdidas en el cultivo, con mayor efecto cuando las infecciones severas se originan antes



e3340



del período de floración [16]. En la Franja Transversal del Norte, Alta Verapaz, el CMA se ha presentado con una incidencia mayor al 50 %, y un grado de infección de las lesiones de moderadas a fuertes y de plantas totalmente muertas [17]. Debido a que *P. maydis* ha coevolucionado con el maíz durante cientos de años [15], es importante documentar la propagación y el establecimiento de los patógenos, particularmente cuando es nuevo para una determinada región [2, 3]. Por ello, durante el segundo semestre del 2022, se realizó el diagnóstico del CMA en zonas de producción del altiplano central de Guatemala, para determinar la presencia de los patógenos asociados al complejo, comprender la distribución de la enfermedad y enriquecer el banco de información sobre los principales patógenos del cultivo de maíz.

MATERIALES Y MÉTODOS

El diagnóstico del CMA se desarrolló bajo un diseño de investigación no experimental, descriptivo, de carácter observacional. A partir de septiembre del 2022, se visitaron 48 parcelas de maíz que estaban en floración y formación de grano en 13 municipios de Chimaltenango, departamento ubicado en el altiplano central de Guatemala, siendo estos: Tecpán, Patzicía, San Martín Jilotepeque, Pochuta, El Tejar, San Andrés Itzapa, San Juan Comalapa, Chimaltenango, San José Poaquil, Zaragoza, Patzún, Parramos y Acatenango. Dentro de las parcelas, se identificaron cinco cuadrantes y se evaluaron 18 plantas en cada uno. Se verificó la presencia o ausencia de manchas negras brillosas en las hojas según el estrato de la planta, y se determinó el grado de infección de manera visual (fenotipado), de acuerdo con la escala diagramática de severidad del CMA que comprende valores de 0 a 4 (Tabla 1, Fig 1).

Para la verificación de la presencia de los patógenos asociados con el CMA, dentro de los cuadrantes identificados, se seleccionaron muestras de hojas con manchas negras elevadas-brillosas (estromas) y de hojas con la formación del ojo de pescado. La región estromal de las lesiones foliares se cortaron longitudinalmente, se colocaron en portaobjetos y se observaron en el microscopio a 10X, 40X y 100X. Así mismo, se evaluó la comunidad fúngica de las lesiones, y para ello, se seleccionaron estromas y se maceraron con nitrógeno líquido. Se utilizó el kit: Quick-DNA ™ Fungal/Bacterial Miniprep Kit, Zymo Research® para la extracción de ADN. Las muestras procesadas se trasladaron al laboratorio de protección vegetal de la Universidad del Valle de Guatemala, para su envío a secuenciación.

TABLA 1. Escala del grado de infección del complejo mancha de asfalto (CMA) [18]

Valor	Grado de infección	Descripción
0	Planta sana	No se presentan lesiones (manchas negras) en las hojas.
1	Infección leve	Unas pocas lesiones diseminadas en las hojas inferiores.
2.	Infección moderada	Lesiones abundantes, la mayoría sobre las hojas inferiores y unas pocas en las hojas superiores.
3	Infección fuerte	Lesiones de manchas negras abundantes sobre las hojas inferiores e intermedias moviéndose hacia las hojas superiores
4	Infección muy fuerte	Abundantes lesiones sobre todas las hojas (alcanzan la hoja bandera). Las plantas pueden morir prematuramente,

Tomado de: Cortez, M., Castellanos, L., & Aldana, A. (2010). [18]





e3340

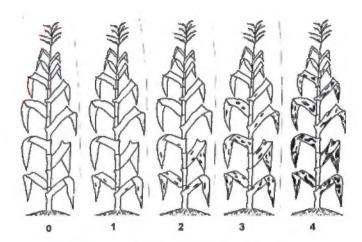


FIGURA 1. Escala diagramática del complejo mancha de asfaito.

Tomado de: Cortez, M., Castellanos, L., & Aldana, A. (2010). [18]

Imagen utilizada con permiso de la Escuela Nacional de Agricultura "Roberto Quiñónez" (ENA).

RESULTADOS

En las 48 zonas de producción de maiz en Chimaltenango se identificaron síntomas asociados al CMA: presencia de manchas negras brillantes dispersas en las hojas, así como la formación del ojo de pescado (Fig. 2). Respecto al grado de infección, 36 parcelas presentaron una infección entre moderada y fuerte según la escala utilizada, ya que los estromas alcanzaron la hoja bandera (Fig. 3). Al realizar la caracterización microscópica de los cortes de la región estromal de las manchas negras brillantes, se observó que las ocho ascosporas ovaladas estaban dentro de las ascas en un solo peritecio, característica de *P. maydis* [12] (Fig. 4). Por otro lado, de las muestras que se enviaron a secuenciación, se confirmó la presencia de *P. maydis* de las procedentes de Parramos y Patzún, al mostrar una similitud del 98.83 % y 98.57 %, respectivamente (Tabla 2).

La incidencia de los síntomas iniciales asociados al CMA difiere según el municipio evaluado. Seis municipios que se encuentran entre 2,067 a 2,282 m.s.n.m presentaron el 100 % de incidencia de las manchas negras brillantes, con un grado de infección entre 3 y 4 siendo estos: Chimaltenango, San José Poaquil, Zaragoza, Patzún, Parramos y Acatenango. La menor incidencia se presentó en áreas de producción de Tecpán (10 %) en las parcelas que se encontraban a 2,388 m.s.n.m. A través de la evaluación de la incidencia y el grado de infección, se estableció el mapa de interpolación del CMA en Chimaltenango (Fig. 5).

Vol. 16, ruro. 2 e3340





FIGURA 2. Formación de ojo de pescado y presencia de manchas negras brillantes en hojas de las plantas de maíz en parcelas de Patzún, Parramos, Zaragoza y Chimaltenango, Guatemala, 2022. Créditos de las fotos: Astrid J. Racancoj

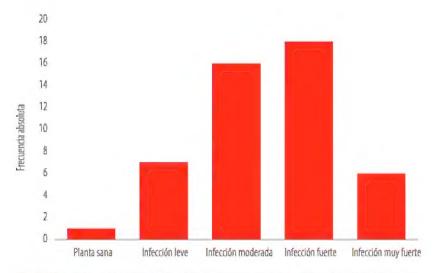


FIGURA 3. Histograma del grado de infección de síntomas asociados al complejo mancha de asfalto en trece municipios de Chimaltenango. Tomado de: elaboración propia.

Val. 16, raro. 2 e3340









FIGURA 4. Verificación de la presencia de *P. maydis* en las manchas negras brillantes de las muestras de hojas de maíz de Patzún, Chimaltenango, Guatemala. A Porción de hoja de maíz con presencia de manchas negras brillantes y síntoma de ojo de pescado, **B** Corte longitudinal de la región estromal, C Presencia de las ocho ascosporas dentro del asca, ápice redondeado, característica de *P. maydis*. Créditos de las fotos: Astrid Racancoj.

TABLA 2. Comunidad fúngica presente en los estromas de las muestras enviadas a secuenciación, recolectadas durante el diagnóstico del CMA en Chimaltenango, Guatemala, 2022.

Localidad	Resultado de secuenciación ITS
Chimaltenango	Phypophtora sp. Similitud: 93.44 %, cobertura 98 %; Cryptacoccus sp. similitud: 97.66 %, cobertura 96 %, Epicoccum sorghium, similitud: 100 %, cobertura 100 %
El Tejar	Pyriculariassp. Similitud: 100 %, cobertura 93 %
Parramos	Phyllachora maydis, similitud: 98.83 %, cobertura 54 %; Phaeoseptoriella zeae, similitud: 74.74 %, cobertura 91 %
Patzicia	Cercospora sp. Similitud: 83.66 %, cobertura 90 %
Patzún	Phyllachora maydis, similitud: 93.13 %, cobertura 80 %; Phytopythium sp. Similitud: 98.49 %, cobertura 38 %; Epicoccum sorghium, similitud: 99.41 %, cobertura 45 %
Pochuta	Phaeoseptoriella zeae, similitud: 84.35 %, cobertura 92 %; Epicoccum sorghium, similitud: 99.78 %, cobertura 100 %
San Andrés Itzapa	Alternaria alternata, similitud: 86,28 %, cobertura 45 %
Tecpán Guatemala	Bipolaris aryzae, similitud: 79,10 %, cobertura 55 %
Zaragoza	Ectophoma poml, similitud: 74.74 %, cobertura 91 %; Alternaria tenuissima, similitud: 79.45 %, cobertura 52 %

Nota: la cobertura hace referencia a la similitud de la secuencia del hongo aislado con la base de datos de NCBI. Los resultados se obtuvieron mediante la Universidad del Valle de Guatemala, Tomado de: elaboración propia

Vol. 16, raro. 2 e3340



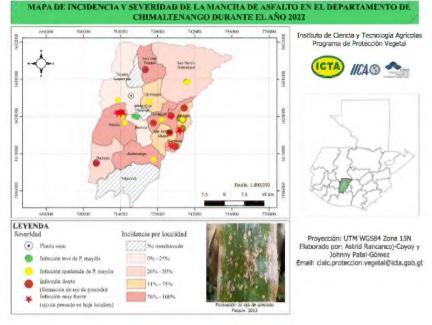


FIGURA 5. Mapa de incidencia y grado de infección de síntomas asociados al complejo mancha de asfalto en Chimaltenango, Guatemala, 2022. Crédito de mapa: Johnny Patal.

DISCUSIÓN

La verificación de al menos uno de los patógenos asociados al CMA en los municipios de Chimaltenango corrobora que esta enfermedad está colonizando zonas de producción del altiplano central de Guatemala. En Chimaltenango, de julio a octubre del 2022, la temperatura mínima fue de 4.4 °C y máxima de 28.6 °C. La temperatura media máxima osciló entre 19.6 y 22.6 °C, con registros de humedad relativa (HR) de 78 a 94 %. Algunos autores [2, 6, 7, 8] hacen referencia a que el complejo se está convirtiendo en una enfermedad emergente en regiones maiceras no tropicales con climas templados o incluso fríos. En Toluca, México, se reportó la presencia del complejo en parcelas de maíz ubicadas a más de 2,660 m.s.n.m., altas mesetas, con clima templado subhúmedo y temperatura media anual de 13.7 °C [21]. Así mismo, "la reaparición de P. maydis en los Estados Unidos en 2016 y 2017 después de la detección inicial en 2015, sugiere que el patógeno ha sobrevivido a temperaturas bajo cero, lo que no representa los ecosistemas típicos a los que el patógeno está naturalmente adaptado (ambientes tropicales cálidos y húmedos) [19]. El CMA "se está convirtiendo en una nueva amenaza para regiones productoras de maíz con temperaturas de templadas a frías" [20]. En Chiapas, México, el punto de inflexión de la curva epidémica del CMA es promovido por temperaturas de 22.9 a 24.7 °C, con una HR de 83.5 a 91.6 %, y de tres a seis horas con rocío [8]. Las condiciones climatológicas de Chimaltenango se encuentran dentro del nuevo rango reportado para que los patógenos asociados al CMA se puedan establecer. Por otro lado,





al considerar que el ciclo del maíz cultivado en regiones de clima templado es más largo (nueve meses) que en las regiones tropicales (cuatro meses), la amplitud del ciclo de producción también podría permitir un establecimiento prolongado de los patógenos asociados al CMA.

Las pérdidas que puede generar la presencia del CMA en el cultivo dependen de varios factores, incluyendo la resistencia del material, las condiciones agroclimáticas favorables para el desarrollo de los patógenos, la diseminación del agente causal, la etapa de Infección y el desarrollo de la enfermedad [14]. Por otro lado, algunos autores aluden a que los brotes severos del CMA pueden afectar el rendimiento, sin ser necesaria la formación de las lesiones conocidas como "ojo de pescado" [22, 14]; en tal sentido hacen referencia a que Monographella maydis no es necesaria para que se desarrolle el síntoma de "ojo de pescado" [22]. Así mismo, algunos autores sugleren que P. maydis puede ser capaz de causar las lesiones de las manchas negras brillosas, así como las lesiones del ojo de pescado. En Ecuador, síntomas asociados al CMA están presentes, pero no han sido identificados M. maydis ni C. phyllachoreae [10, 14, 22]. Al confirmar que, en Chimaltenango, al menos uno de los patógenos asociados al CMA (P. maydis), está presente en las zonas de producción de maíz, se determina que este patógeno está colonizando áreas con condiciones climatológicas templadas. Por tanto, es posible que, a mediano o largo plazo, la presencia de esta enfermedad pueda afectar la seguridad alimentaria en las regiones del altiplano central de Guatemala.

AGRADECIMIENTOS

La investigación fue desarrollada por el Programa de Protección Vegetal del Instituto de Ciencia y Tecnología Agricolas (ICTA). Los agentes de extensión de Chimaltenango del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAGA) facilitaron el acercamiento con los agricultores y las visitas a las parcelas de maiz. Este proyecto fue ejecutado gracias al apoyo financiero del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés), La gestión para difundir los resultados de la investigación la realizó la Red Latinoamericana de Maíz y el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED), proyecto TechMaíz.

CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES

Astrid Racancoj estableció la investigación, desarrolló la metodología y realizó el trabajo de campo; Glenda Pérez y Astrid Racancoj prepararon las muestras para los análisis moleculares; Johnny Patal elaboró el mapa de interpolación del CMA en Chimaltenango.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.



Vol. 16, nro. 2 e3340



REFERENCIAS

- Chávez, O. (2022). Situación del cultivo de maíz en Guatemala; principales limitaciones en la productividad. ACI Avances En Gendas E Ingenierías, 14(1), https://doi.org/10.18272/acl.v14i1.2596
- [2] Orellana, A. & Dardón, E. (2012). Aspectos generales y guía para el manejo agronómico del maíz en Guatemala. Guatemala. ICTA, 66. https://www.icta.gob.gt/publicaciones/Maiz/Aspectos%20generales%20y%20guia%20para%20el%20manejo%20del%20maiz.pdf
- [3] Fuentes, M. (2002). El cultivo de maíz en Guatemala, una guía para su manejo agronómico. Instituto de Ciencia y Tecnologías Agricolas. Guatemala, 45 pp. https://www.icta.gob.gt/publicaciones/Maiz/cultivoMaizManejoAgronomico.pdf
- [4] Hock, J., Kranz, J., & Renfro., B. (1989). El complejo mancha de asfalto de maíz: Su distribución geográfica, requisitos ambientales e importancia económica en México. Revista Mexicana de Fitopatología, 7, 129~35.
- [5] Müller E, and Samuels J. (1984). Monographella maydis sp. nov. and its connection to the tar spot disease of Zea mays. Nova Hedwigia 40,113—121.
- Hock, J., Dittrich, U., Renfro, B., & Kranz, J. (1992). Sequential development of pathogens in the maize tarspot disease complex. Mycopathologia, 117,157—161. https://doi.org/10.1007/BF00442777
- [7] López, C., Salazar, O., Dax, R., Osorio, M., Calderón, C., Cabrera, H., Ferrufino, A., Vlana, A., Saavedra, D. (2011). Reconocimiento en campo de la mancha de asfalto en el cultivo de maíz. Red de Innovación Agricola, Red SICTA/IICA/ Cooperación Suiza, Guatemala. https://repositorio.lica.int/handle/11324/19971
- [8] Quiroga-Madrigai, R., Garrido-Ramírez, E., Rosales-Esquinca, M. D., & Salazar-Pinacho, W. (2017). Manual técnico: Manejo integrado del complejo mancha de asfalto del maíz en México. Tuxtla Gutiérrez. Chiapas, México. Universidad Autónoma de Chiapas. https://www.researchgate.net/publication/317929566
- Pereyda-Hernández, J., Hernández-Morales, J., Sandoval-Islas, J. S., Aranda-Ocampo, S., de León, C. & Gómez-Montiel, N. (2009). Etiología y manejo de la mancha de asfalto (Phyllachora maydis Maubl.) del maíz en Guerrero, México. Agrociencia, 43(5), 511-519. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pld=S1405-31952009000500006&script=sci_abstract&tlnq=pt
- [10] Loladze, A., Rodrigues Jr, F. A., Toledo, F., San Vicente, F., Gérard, B., & Boddupalli, M. P. (2019). Application of remote sensing for phenotyping tar spot complex resistance in maize. Frontiers in Plant Science, 10, 552. https://doi. org/10.3389/fpls.2019.00552
- [11] Liu, L. (1973). Incidence of tar spot disease of corn in Puerto Rico. J. Agric. Univ. PR. 57. https://doi.org/10.46429/jaupr.v57i3.10745
- [12] Hernández, C. E. P., & Avellaneda, C. (2021). Epidemiología de la mancha de asfalto en maíz bajo diferentes estrategias de manejo. CEIBA, Zamorano Investiga, 65-B2. https://revistas.zamorano.edu/index.php/CEIBA/article/ view/1269
- [13] Mahuku, G., Chen, J., Shrestha, R., Narro, L. A., Osorio-Guerrero, K. V., Arcos, A. L. & Xu, Y. (2016). Combined linkage and association mapping identifies a major QTL (qRtsc8-1), conferring tar spot complex resistance in maize. Theoretical and Applied Genetics, 129, 1217-1229. https://doi.org/10.1007/s00122-016-2698-y
- [14] Telenko, D., Chilvers, M., Kleezewski, N., Smith, D., Bryne, A., DeVillez, P., Diallo, T., Higgins, R., Joos, D., Kohn, K., Lauer, J., Mueller, B., Singh, M., Widdicombe, W. & Williams, L. (2019). How tar spot corn impacted hybrid yields during the 2018 Midwest epidemic. *Crop Protection Network*. https://doi.org/10.31274/cpn-20190729-002
- [15] Mottaleb, K., Loładze, A., Sonder, K., Kruseman, G., & San Vicente, F. (2018). Threats of tar spot complex disease of maize in the United States of America and its global consequences. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, 24, 281-300 https://doi.org/10.1007/s11027-018-9812-1
- [16] ICTA Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas. (2022). ICTA Grano de Oro, hibrido amarillo resistente a mancha de asfaña. YouTube. https://www.youtube.com/watch?v=XKuOZYw87s8
- [17] Cruz, A., & Choc, R. (2018). Estimación, espacial de mancha de asfalto en maíz, en los municipios de la Franja transversal del Norte, Alta Verapaz, Guatemala. ICTA. https://www.icta.gob.gt/publicaciones/informes%20 Finales%20IICA-CRIA%202020/4%20MAIZ%20NORTE/Mancha%20Asfalto-CUNOR-%20A%20Ru%C3%ADz/ Informe%20IICA%20Ma%C3%ADz%20Asfalto.pdf



Vol. 16, raro. 2 e3340



- [18] Cortez, M., Castellanos, L., & Aldana, A. (2010). Evaluación de cinco fungicidas comerciales para el manejo del patógeno causante de la mancha de asfalto (Phyllachora maydis maubl.) en el cultivo de maiz (Zea mays I.). El Salvador. Escuela Nacional de Agricultura "Roberto Quiñonez", https://ena.edu.sv/wp-content/uploads/2021/02/Comparaci96C396B3n-del-efecto-de-cinco-fungicidas-comerciales..pdf
- [19] Kleczewski, N., Piewa, D., Bissonnette, K., Bowman, N., Byrne, J., LaForest, J., Dalla-Lana, F., Malvick, D., Mueller, D., Chilvers, M., Paul, P., Raid, R., Robertson, A., Ruhl, G., Smith, D., & Telenko (2020). Documenting the establishment, spread, and severity of *Phyllachora maydis* on corn, in the United States. *Journal of Integrated Pest Management*, 11(1), 14. https://doi.org/10.1093/jipm/prmaa012
- [20] Valle, J., Ross, T., Plewa, D., Avellaneda, M., Check, J., Chilvers, M., Cruz, A., Dalla, F., Groves C, Gongora-Canul, C., Henriquez-Dole, L., Jamann, T., Kleczewski, N., Lipps, S., Malvick D, McCoy, AG., Mueller, D., Paul PA., Puerto, C., Schloemer, C., Raid, R., Robertson, A., Roggenkamp, E., Smith, D., Telenko, D., & Cruz, C. (2020). Tar spot and understudied disease threatening corn production in the Americas. Plant Disease. 104(10), 2541-2550. https://doi.org/10.1094/PDIS-02-20-0449-FE.
- [21] Ríos, E., Partida, L., Ochoa, Y, Cerna, E., Hernández, F., Flores, A., Olalde, V. and Rodríguez, R. (2016) First report on the presence of *Phyllachora* sp. in corn crops at Toluca, Estado de Mexico. *American Journal of Plant Sciences, 7(5)*, 733–739. https://doi.org/10.4236/ajps.2016.75067
- [22] McCoy, A., Roth, M., Shay, R., Noel, Z., Jayawardana, M., Longley, R., Bonito, G., & Chilvers, M. (2019). Identification of fungal communities within the tar spot complex of corn in Michigan via next-generation sequencing. *Phytobiomes Journal*, 3(3), 235-243. https://doi.org/10.1094/PBIOMES-03-19-0017-R